GE Healthcare

紫外・可視分光光度計
Ultrospec 6300 *pro*
取扱説明書

GE imagination at work

71-2368-33

contents

開梱、設置、起動 2

安全上の注意 3

はじめに 4

本装置の特徴 4

操作 5

キーパッドとディスプレイ 5
Basic Modes（基本測定） 7
Methods 9
Nucleic（核酸測定） 10
Protein（タンパク質測定） 16
装置のユーティリティー 31
プリンターへの出力 33
PCへの出力 33
エラーメッセージ 34

アクセサリー 35

マルチポジションセルチェンジャー 35
シングルセルホルダー 37
その他のアクセサリー、消耗品 40
SWIFT II アプリケーションソフトウェア 41
21 CFR part11 compliant SWIFT II アプリケーションソフトウェア 42

メンテナンス 43

アフターサポート（保守） 43
ランプ交換 44
装置のクリーニングと一般的なメンテナンス 47

付録 48

Pharmacopoeia（薬局方） 48
Good Laboratory Practice 49
タンパク質の定量 54

仕様 56

保証 57

開梱、設置、起動

☐ 装置に輸送時に生じたと思われる損傷がないか確認してください。何らかの損傷を見つけた場合は、すぐに取扱い代理店にお知らせください。

☐ 装置は下記の安全な使用条件を満たす場所に設置してください。

室内でのみ使用してください。

許容温度：10～40 ℃

最大許容相対湿度：31 ℃までは80 %以下。ただし31 ℃以上では40 ℃で50%まで直線的に減少します。

☐ 装置は必ず13 kgの本体重量が支えられる丈夫で平らな実験台に設置してください。装置の周囲は空気が自由に循環できるようにしておいてください。

☐ 壁から最低5 cm以上離して設置し、冷却ファンの吸／排気口を塞がないようにしてください。

☐ 本装置は付属の電源ケーブルを使って電源に接続し、必ずアース線を接地してください。装置は90～265 Vの範囲で使用可能です。

☐ 後部パネルの電源スイッチを投入すると、数秒間の初期化後、約1分間のキャリブレーションが開始されます。シヨウカノウデス（Instrument Ready）のタイトルで、装置のシリアル番号、ソフトウェアのバージョン、日付、サンプル番号が表示された画面に切り替わると、測定を開始することができます。

☐ 本装置は出荷時にベースラインが保存されています。ベースラインは光源の波長-エネルギー特性を補正するためのものです。ランプを交換した時や長時間（数週間）装置を使用しなかった時は、新たにベースラインを作成し保存してください（32ページ参照）。

☐ 研究室名、操作者名、固定資産番号、日付、時刻の入力やプリンタータイプの設定は、装置のユーティリティー（31ページ）をご参照ください。

本装置は“press to read”システムを採用しており、重水素／タングステンランプが継続的に点灯する他の分光光度計と異なり、15分間以上装置が使用されなかった時には、自動的にランプが消灯します。再び使用する際には、“Turning lamp on…”のメッセージが数秒間表示され、測定可能な状態になります。

本装置を定められた以外の方法で使用したり、安全な操作上適切でない設置環境で使用した場合には、装置の安全機構が損なわれ、装置の保証をしかねる場合があります。

安全上の注意

本装置には危険性のある箇所や特別な注意事項を示すさまざまな警告表示や記号があります。
装置を使用する前に、それらの記号とその意味をよく理解してください。

警告の記号

背景は黄色、記号と枠は黒色です。

WARNING

U.V. RADIATION
HOT

紫外線が照射されます。
高温になります。

WARNING

U.V. RADIATION IS HARMFUL
TO YOUR EYES

紫外線は目を痛めます。トップカバーを外した状態で電源を投入する際は、必ず目を保護してください。

アクセサリー

- 加熱したアクセサリーを取り扱う際は注意してください。
- セルチェンジャーやシッパーを操作する際は、セルコンパートメントの蓋が閉まっていることを確認してください。
- シングルセルアクセサリーに付属しているベースプレートプラグは、最適な空気循環と遮光のため、正しく取り付けてください。

はじめに

本装置は高解像度液晶ディスプレイ（LCD）を搭載した、操作の簡便な紫外・可視分光光度計で、広範囲な吸光度測定に対応しています。また、英国および欧州薬局方の定める要求を満たしています（47ページ、付録参照）。

本装置は重水素およびタングステンランプを光源としています。光源から発せられた光は、自動調整機能付きの固定ミラーにより屈折し、モノクロメーターの入口スリットを通過します。四分円フィルターの一つを通り（通過するフィルターは選択した波長によって異なります）、ホログラフィック格子により選択した波長の単一光となります。単一波長となった光はモノクロメーターの出口スリットを通過し、ミラーによりサンプルコンパートメント内に集光されます。目的のサンプルが入ったセルを通過した光は、最後に脱焦点レンズを通ってソリッドステートディテクターに入ります。得られたシグナルは、数値化されて装置のディスプレイに表示されます。

本装置の特徴

標準的な吸光度、濃度、透過率を測定します。

□ DNA、RNA、オリゴヌクレオチドの定量および純度確認、蛍光標識cDNAの標識効率の確認、核酸波長スキャン、Tm計算を行うことができます。核酸に関する便利な情報も保存されています。

□ ブラッドフォード法、ローリー法、ビューレット法、BCA法、UV法によるタンパク質定量法の各パラメータがセットされています。タンパク質とアミノ酸に関する便利な情報も保存されています。

□ 以下のアプリケーションモードがあります

- 波長スキャン
- 酵素カイネティクス
- 多波長測定
- 多点標準定量
- 基質濃度測定

□ ユーザーメソッドを50個まで保存できます。

- シリアルインターフェースを通して測定結果を直接PCにダウンロードし、Excelで解析したり、保存することができます。
- GLP自己診断機能があります。
- 各種アクセサリーを利用することにより、本装置の機能がさらに充実します。
- Press to readシステムを採用しています。ランプの無駄な消耗を防ぎ、装置のランニングコストを低減します。

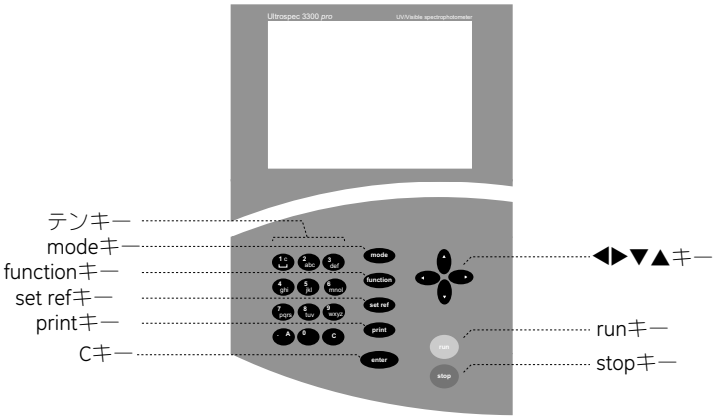
□ ランプ点灯後のウォーミングアップは不要です。

□ Runキーもしくはset refキーを押したときのみ測定値が表示されます。ランプが消灯している状態から測定までは10秒程度かかります。このとき“Turning lump on…”のメッセージが数秒表示されます。

□ 装置が稼動していない状態が15分以上続くとランプが自動的に消灯します。

操作

キーパッドとディスプレイ

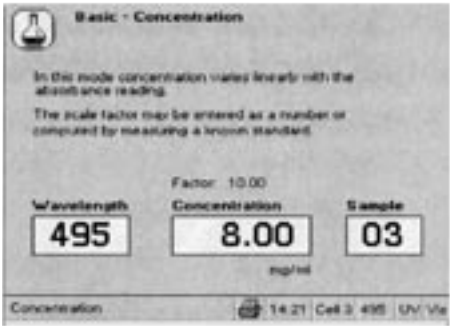


ディスプレイにはインデックスカード形式でメニューが表示されます。各メニューは◀▶▼▲キーで選択し、enterキーもしくは▼キーで 確定します。必要に応じて、数値、文字や塩基配列など入力もできます。

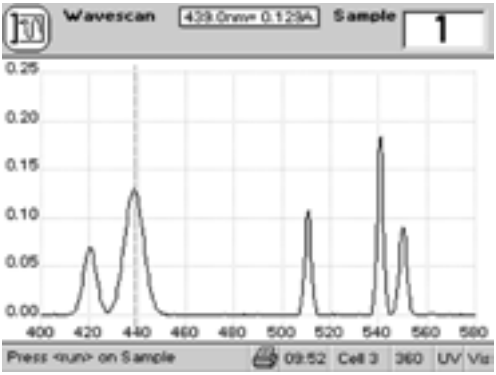
mode キー：	測定モードの選択、セットアップページの呼び出しおよび測定後のデータ処理ページへのアクセスに使用します。
function キー：	装置のユーティリティーへのアクセスに使用します。
set ref キー：	その測定モードで利用するすべての波長でリファレンス測定を行う場合に選択します。リファレンス値はその後測定するサンプルの測定値から差し引かれます。
print キー：	グラフや測定結果をプリンターもしくは PC へ出力する際に使用します。Auto-print を選択している場合は、測定直後に結果が自動的に出力されます（32 ページ、装置のユーティリティー参照）。
enter キー：	選択した項目を確定させます。
C キー：	入力した数値を消去します。核酸測定および多波長測定モードでは、新規測定のためのリファレンス測定キーとして機能します。
run キー：	各測定モード内での測定開始に使用します。基本測定モード以外では、自動的にリファレンスが測定されます。サンプル番号（およびセルポジション）は自動的にカウントされます。
stop キー：	現在の操作を中止します。測定の中止やメインメニューへ戻る場合に使用します。

測定結果のディスプレイ表示は選択されている測定モードによって異なり、以下の2つのフォーマットがあります。

a) 基本測定（吸光度、透過率および濃度）、核酸測定（DNA、RNAおよびOligo）、タンパク質測定（UV法）モードでは、シンプルなボックス形式のレイアウトで表示されます。



b) その他の測定モードでは、グラフと装置に関する情報が表示されます。ディスプレイ下のステータスバーには、プリンターが接続されているかどうか、時刻、装着されているアクセサリー（マルチポジションセルチェンジャーの場合はセルポジション）、波長、ランプのステータスが表示されます。また、次の何の操作をすればよいか（例えばset-ref、load sampleなど）や装置のステータス（例えばsetting-ref、running sampleなど）も表示されます。



ステータスバー

Basic Modes (基本測定)

Basic Modes画面ではAbsorbance（吸光度測定）、% Transmission（透過率測定）、Concentration（濃度測定）測定が行えます。

◆Absorbance (吸光度測定)

吸光度測定モードでは、サンプルを通過した光の量をリファレンスと比較して測定します。操作は以下の通りです。

- 測定波長を入力します。
- サンプル番号を入力します。
- リファレンスをセルホルダーに挿入し、runキーを押します。セルチェンジャーを装着している場合は、セルポジションが自動的にひとつ移動し、リファレンスの測定結果（0.000）が表示されます。
- 本装置は“press to read”システムを採用しているため、他の分光光度計と異なり、重水素／タングステンランプは継続的に点灯していません。サンプルの安定性をモニターする場合は、カイネティクスモードを使用してください。
  ※ リファレンスの値は新たにリファレンスを取り直すまで適用されます。
- サンプルをセルホルダーに挿入し、runキーを押します（すべてのサンプルを測定し終えるまでこの操作を繰り返します。サンプルごとに新たにリファレンスを取り直す必要はありません）。
- メニュー画面に戻る場合や波長を変更したい場合はmodeキーを押します。

◆% Transmission (透過率測定)

透過率測定モードでは、サンプルを通過した光の量をリファレンスと比較して測定します。この結果はパーセンテージで表示されます。サンプルの濃度と透過率との関係は、いずれの波長においても直線的ではありません。そのため、吸光度の非常に高い（透過率の低い）のサンプルの場合を除いては、透過率の測定を行うことは稀です。操作は以下の通りです。

- 測定波長を入力します。
- サンプル番号を入力します。
- リファレンスをセルホルダーに挿入し、runキーを押します。セルチェンジャーが装着されている場合は、セルポジションが自動的にひとつ移動し、リファレンスの測定結果（100%）が表示されます。
  ※ リファレンスの値は新たにリファレンスを取り直すまで適用されます。
- サンプルをセルホルダーに挿入し、runキーを押します（すべてのサンプルを測定し終えるまでこの操作を繰り返します。サンプルごとに新たにリファレンスを取り直す必要はありません）。
- メニュー画面に戻る場合や波長を変更したい場合はmodeキーを押します。

◆Concentration（濃度測定）

Factor（ファクター）とStandard（スタンダード）の2つの濃度測定モードがあります。

ファクター濃度測定モードは、吸光度を濃度に変換するファクターが既知の場合に利用できます。

濃度＝吸光度×ファクター

スタンダード濃度測定モードは、既知濃度のサンプルがある場合に利用できます。特定の波長での吸光度を測定してファクターを計算し、未知サンプルの濃度測定に適用します。この測定方法は、0濃度のスタンダードの吸光度を0と仮定した、1点標準定量と同じです。

操作は以下の通りです。

- ・測定波長を入力します。
- ・サンプル番号を入力します。
- ・測定モード（Factor もしくはStandard）を、▶キーで選択します。

Factorを選択した場合

- ・未知サンプルの濃度 = 吸光度×ファクター
- ・ファクターを入力します（0.01～99,999）。
- ・単位（分子）を▶キーで選択します。
- ・単位（分母）を▶キーで選択します。
- ・リファレンスをセルホルダー1に挿入し、runキーを押します。
- ・サンプルをセルホルダー2以降に挿入し、runキーを押します（すべてのサンプルを測定し終えるまでこの操作を繰り返します。サンプルごとに新たにリファレンスを取り直す必要はありません）。

Standardを選択した場合

- ・未知サンプルの濃度 = 未知サンプルの吸光度 ×（スタンダードの濃度/スタンダードの吸光度）
- ・スタンダードの濃度を入力します（0.01～99,999）。
- ・単位を▶キーで選択します。
- ・単位を▶キーで選択します。
- ・リファレンスをセルホルダー1に挿入し、run キーを押します。
- ・スタンダードをセルホルダー2に挿入し、runキーを押します（ファクターが計算されます）。
- ・サンプルをセルホルダー3以降に挿入し、runキーを押します（すべてのサンプルを測定し終えるまでこの操作を繰り返します。サンプルごとに新たにリファレンスを取り直す必要はありません）。

→ スタンダードから相関的に算出されたサンプルの濃度が表示されます。

Methods

初期画面 またはmodeキーの選択で、次の３つの内容が表示されます。Saveのみ、各アプリケーションから入力できるようになります

◆Save (保存)

メソッドは最大50個まで保存できます。操作は以下の通りです。

- （各アプリケーションの）測定モードでsaveを選択します。
- メソッドを保存する場所（1-10、11-20など）を、▶キーで選択します。
- メソッド番号をテンキーで選択します。
- ▶キーを押してアルファベットキーパッドを表示させ、メソッド名を入力します（33ページ、装置のユーティリティー参照）。数値はキーパッドで直接入力します。

◆Recall (呼び出し)

保存されているメソッドを呼び出す操作は以下の通りです。

- modeキーを押してMethodsを選択し、enterキーを押します。
- メソッドが保存されている場所（1-10、11-20など）を、▶キーで選択します
- メソッド番号をテンキーで選択します。
- メソッドに保存された測定モードが呼び出されたら、リファレンスおよびサンプルをセルホルダーに挿入し、runキーを押して測定を開始します。

◆Clear (消去)

保存されているメソッドを消去する操作は以下の通りです。

- modeキーを押してMethodsを選択し、enterキーを押します。
- キーパッドのCキーを押します。User Methodsの右の表示がRecallからClearになります。
- メソッドが保存されている場所（1-10、11-20など）を、▶キーで選択します
- メソッド番号をテンキーで選択します。
- 消去する場合はyes、しない場合はnoを、▶キーで選択します。

プリントアウト

printキーを押すと、保存されている全メソッドの名前と番号をプリントアウトすることができます。

Nucleic（核酸測定）

モード	ファクター	A_{260}/A_{280}	用途
DNA	50 ng/µl	1.8	DNA 定量、純度チェック
RNA	40 ng/µl	2.0	RNA 定量、純度チェック
Oligo	33 ng/µl（変更可）	塩基配列による	オリゴヌクレオチド定量、純度チェック
cDNA labelling	50 ng/µl		マイクロアレイ解析用蛍光標識 cDNA や *in situ* ハイブリダイゼーション用 PCR プローブの定量
Scan	-	-	スペクトル確認、定量、純度チェック
Tm	-	-	入力した塩基配列の理論的 Tm 値の計算
Info	-	-	核酸に関する便利な情報

核酸（DNAやRNA）の溶液は、光路長10 mmのセルで測定したときの260 nmにおける吸光度が1.0の場合、それぞれ50、40 µg/mlの濃度であることが確認されているため、この値（ファクター）をもとに定量することができます。オリゴヌクレオチドの場合は、塩基配列によって異なりますが、33 µg/mlというおおよその値を用いることができます。

核酸濃度 = Abs_{260}（260 nmでの吸光度）×ファクター

細胞から核酸を抽出する際には、タンパク質が不純物として混入するため、それを除去するための精製が必要になります。吸光度比260 / 280だけで絶対評価することはできませんが、核酸の純度の指標になります。純度の高いDNAやRNAの場合、この吸光度比がそれぞれ≧1.8、≧2.0になります。一般にこの値からずれていると不純物が混入している可能性が高いと考えられますが、測定結果については慎重に判断してください。

また、230 nmにおける吸光度の上昇は、吸収極大が230 nmに近いペプチド、TrisやEDTAなどのバッファーの混入を示唆します。RNAサンプルを測定した場合には、吸光度比260 / 230が＞2.0になり、この値より低い場合は、RNA精製に一般的に使用されるグアニジンチオシアネート（230～260 nmで吸収がみられる）が混入している可能性があります。200～350 nmの範囲で波長スキャンすることにより、純度を視覚的に確認することもできます。

吸光度比 = Abs_{260} / Abs_{280}

蛍光標識cDNAやPCRプローブを850 nmまでの範囲でスキャンすることにより、それぞれのピークから標識効率をモニターすることができます。

バックグラウンド補正

核酸やタンパク質の吸収ピーク（260、280 nm）から完全に離れた波長を利用して、バックグラウンド吸収の補正を行うことがあります。利用する波長は320 nmで、濁った溶液、バッファーに強い吸収がある場合や微量セルを使用する場合の測定値への影響を補正することができます。

核酸の濃度=（Abs_{260} - Abs_{320}）×ファクター

吸光度比=（Abs_{260} - Abs_{320}）/（Abs_{280} - Abs_{320}）

本装置は、260、280および320 nmにおける吸光度を利用して、核酸濃度、吸光度比260 / 280を計算・表示し、またサンプルの希釈率も補正します。257 nmのピーク波長や350 nmのバックグラウンド波長を利用したい場合は、核酸スキャン（12ページ）もしくはApplicationモードのMultiwaveタブ内の吸光度比モード（21ページ）をご使用ください。

ウルトラマイクロボリュームセル (80-2103-68) を使用する場合の注意

- 測定モードは光路長10 mmのセルを使用することを前提にしています。光路長が5 mmのセルを使用する場合は、希釈率を本来の値から2倍に設定変更するか、測定値を2倍にするなどの補正が必要です。
- セルに付属しているビューアーにセルを差し込んで光にかざし、サンプルが正しく充填されているかどうか確認してください。サンプルの充填が適切でないと、メニスカスや気泡がビームを遮ってしまうため、測定の再現性が失われます。
- 320 nmでのバックグラウンド補正は、このような微量セルを使用する場合に有用です。

◆DNA, RNA, Oligo (DNA、RNA、オリゴヌクレオチド測定)

- バックグラウンド補正の有無を▶キーで選択します。
- サンプルの希釈率を入力します。
- Oligoの場合：

  変換ファクター（分かっている場合）を入力します（初期値33 µg/ml）。ファクターは塩基配列から計算することができます（15ページ、Tm値計算参照）
- 測定の積算時間（0.1、1、2、5秒）を、▶キーで選択します。
- 初期値は1秒です。吸光度の非常に低い（もしくは高い）サンプルの場合は、積算時間を長めにします。
- メソッドを保存する場合は、▶キーで選択します。
- リファレンスおよびサンプルをセルホルダーに挿入し、runキーを押します。

  ＜シングルセルホルダーを使用している場合＞

  リファレンスをセルホルダーに挿入し、set refキーを押します。

  サンプルをセルホルダーに挿入し、runキーを押します（すべてのサンプルを測定し終えるまでこの操作を繰り返します。サンプルごとに新たにリファレンスを取り直す必要はありません）。

◆ Scan (スキャン)

核酸の純度は、200～350 nmの波長範囲でスキャンして確認します。このモードは、特にRNAやオリゴヌクレオチドサンプルの測定に有用です。操作は以下の通りです。

- スキャン開始波長は200 nmで固定されています。
- スキャン終了波長を入力します（350～600 nm）。ディスポーザブルタイプのUV測定用プラスチックセル（70 µl：80-3000-81 / 750 µl：80-3000-77）を使用してスキャンを行うと、200nm～220 nmの範囲に光学的な影響が表れますので、考慮してご利用ください。
- 波長1（λ1）を入力します。濃度および吸光度比の計算に用いられます。
- 波長2（λ2）を入力します。吸光度比の計算に用いられます。
- バックグラウンド補正の有無を▶キーで選択します。
- バックグラウンド補正有効にした場合は、その波長（λB）を入力します。
- サンプル溶液の希釈率を入力します。
- λ1に適用されるファクターを入力します。
- 必要に応じて▶キーでメソッドを保存します。
- リファレンスをセルホルダーに挿入し、runキーを押します。サンプルをセルホルダーに挿入し、runキーを押します。

波長1の値は測定後に▶キーで変更することができます。濃度や吸光度比の計算結果は、これに合わせて自動的に変更されるので、計算パラメーターの至適化に便利です。

◆cDNA (cDNA測定)

2色蛍光マイクロアレイ解析では、蛍光標識cDNAプローブの標識効率を吸光度測定によって求め、ハイブリダイゼーション後に十分なシグナルが得られるかどうかを確認します。また、得られた測定値をもとにハイブリダイゼーション前にそれぞれのプローブの濃度を調整し、それぞれの蛍光色素の相対的蛍光強度のバランスをとることもできます。cDNA の収量は、260 nmにおける吸光度で、 フルオレセイン、Cy3およびCy5の標識量は、それぞれの吸収ピークにおける吸光度から求められます。同様にこの方法は、蛍光*in situ*ハイブリダイゼーション（FISH）用のプローブの定量にも応用することができます。

操作は以下の通りです。

1. Set up

- 蛍光色素の種類（Cy3、Cy5、Fluorescein、Other dye）を▶キーで選択します。

注意

Other dyeを選択したときは、Other dyeタブで詳細設定をしてください(14ページ)。

・ バックグラウンド補正の有無を▶キーで選択します。
・ バックグラウンド補正を有効にした場合は、その波長を入力します。

注意

・初期値はCy3 / Cy5用に430 nmに設定されています。フルオレセインについては400 nm、およびその他の色素については410 nmに設定されています。
・精製ステップからサンプルと共に持ち込まれたバッファーやその他の成分が、設定した波長において吸収がないことが重要です。

・ cDNA合成に使用したRNA量をng単位で入力します（X～99,999）。

注意

RNA量はRNA定量モード（11ページ）もしくはScanモード（12ページ）で定量することができます。

・サンプル溶液の希釈率を入力します。
・260 nmの吸光度からcDNAの濃度を求めるための変換ファクターを入力します。
・プローブ溶液の容量をµl単位で入力します。

2. Scan

スキャンが必要の場合はこの項目を選択します。常にonにしておくことをおすすめします。

＜スキャンを選択した場合＞

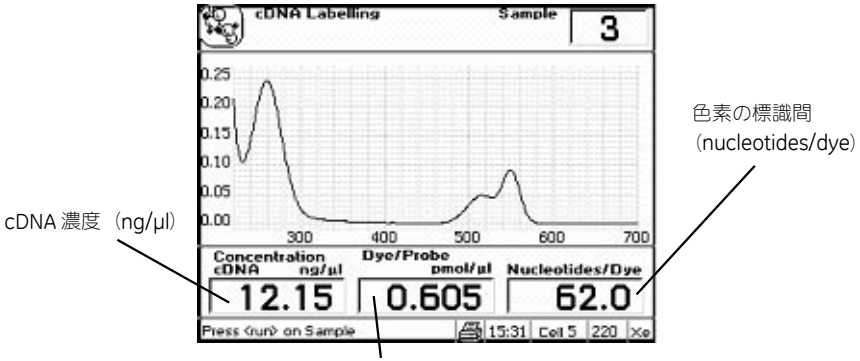
・ スキャン開始波長を入力します。
・ スキャン終了波長を入力します。
・ スキャンスピード（slow、medium、fast）を、▶キーで選択します。

注意

mediumを選択することをおすすめします。slowもしくはmediumを選択すると、スペクトルの滑らかなグラフが得られます。

測定後、グラフのスケールは自動的に調整されます。典型的なスペクトルは、cDNAの定量に利用する260 nmと選択した蛍光色素に応じた波長（フルオレセイン、Cy3およびCy5ではそれぞれ488、550および650 nm）の2箇所でピークを示します。260 nmの吸光度に影響のあるバッファー等の持ち込みがある場合は、核酸の量を正確に定量することはできませんが、蛍光色素の取込み量は求めることができます（次ページの図参照）。

測定後の画面には、cDNA濃度（ng/µl）、プローブ溶液の容量あたりの色素量（pmol/µl）、色素の標識間隔（nucleotides/dye）が表示されます。



3. Other dye（Cy3 / Cy5、Fluorescein以外の色素を用いる場合）

上記Set up操作でOther dyeを選択した場合、以下の操作を行ってください。

- 色素名をアルファベットキーパッド（33ページ）で入力します。
- 色素の吸収極大波長（nm）を入力します。
- 色素の吸光係数（l µmol^{-1} cm^{-1}）を入力します。
- 必要に応じて▶キーでSave Methodをチェックし、メソッドを保存します。

注意

色素別にメソッドを保存しておくと、それぞれを測定する際に便利です。

4. Results

計算のもととなった各吸光度、吸光度比およびcDNA収量（%、ng）を確認することができます。

Abs_{260} / Abs_{230} の吸光度比が1.5未満の場合は、260 nmのピークが不明瞭になり、この値を利用して求められる結果（cDNA濃度、色素の標識間隔、cDNAの収率（%）および収量）の正確性が損なわれます。Abs_{260} / Abs_{230} の吸光度比が低くなる理由としては、以下のことがあげられます。

- バッファーの持ち込みがある
- Abs_{230}の吸光度を上昇させ、Abs_{260}の吸光度に影響する不純物が混入している
- 溶液の濃度が低すぎる

プローブ溶液の容量あたりの色素量（pmol/µl）は、Abs_{260} / Abs_{230}の吸光度比の低さには影響されません。

◆Tm Calculation (Tm値計算)

塩基配列と濃度が分かっている場合、プライマーやオリゴヌクレオチドのTm値（理論的なアニーリング温度）を計算することができます。この機能はPCRやシークエンシングを行う際に有用です。パラメータは、ヌクレオチド鎖中の隣接する各塩基についての熱力学的計算法（Breslauer *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA, **83**, 3746(1986)）により計算されます。

操作は以下の通りです。

- DNAもしくはRNAを、▶キーで選択します（RNAを選択したた場合、TはUとなります）。
- バッファーおよび塩のモル濃度を入力します。
- プライマーもしくはオリゴヌクレオチドの濃度（µg/mlもしくはng/µl）を入力します。
- 塩基配列をキーパッドで入力します。

→ オリゴヌクレオチドの長さ（mer）と分子量が、入力に応じてディスプレイに表示されます。長さが10 mer以上になると、濃度（pmol/µl）、変換ファクター（µg/ml）および理論的Tm値（℃）も表示されます。

◆Info

セルの選択ガイド、分子量のモル数への換算式、コドン辞典が利用できます。

Protein (タンパク質測定)

溶液中のタンパク質の濃度は、紫外・可視分光光度計を用いた比色法で簡便に定量することができます。本装置には、数あるタンパク質測定法のうちよく使用される4つのメソッドが内蔵されています（同じ手法でもキットによって測定波長が異なる場合がありますので、ご注意ください）。一般的なUV法による測定およびタンパク質やアミノ酸に関する便利な情報も利用できます。

Bradford (ブラッドフォード法)

ブラッドフォード法では、濃度未知のタンパク質と濃度既知の標準タンパク質について、クマシーブリリアントブルー色素との結合を比較することにより定量を行います。標準タンパク質としては、一般的にウシ血清アルブミン（BSA）が用いられ、595 nmで測定します。測定範囲は1～10 µgで、色素を5倍用いて大きいチューブを使用すれば、10～100 µgの範囲で測定することもできます。

Lowry (ローリー法)

ローリー法は、濃度未知のタンパク質のチロシン残基と濃度既知の標準タンパク質について、Folin-Ciocalteuフェノール試薬との反応を比較することにより定量を行います。標準タンパク質としては、一般的にウシ血清アルブミン（BSA）が用いられ、750 nmで測定します。測定範囲は1～20 µgで、色素を5倍用いて大きいチューブを使用すれば、5～100 µgの範囲で測定することもできます。

Biuret (ビューレット法)

ビューレット法では、アルカリ条件下で銅イオンとペプチド結合との反応を、濃度既知の標準タンパク質と比較することにより、546 nmで測定して定量を行います。標準の反応時間後に吸光度を測定した場合、130 mg/mlまで直線性のある定量ができます。この方法は、血清や尿中のタンパク質の解析に利用されます。

BCA (BCA法)

BCA法は、ビューレット法と同様に銅イオンとペプチド結合との反応により定量しますが、bicinchoninic acid (BCA) を検出に用い、562 nmで測定します。測定範囲は1～2,000 µg/mlです。

UV methods (UV法)

UV法は、核酸を含む溶液中のタンパク質濃度を推定することができます。また、205、280および215、225 nmでの測定値を用いたタンパク質濃度の測定法も利用できます。

Information

タンパク質とペプチドに関する便利な情報です。

◆Bradford、Lowry、Biuret、BCA法

リファレンスは必須です。スタンダード溶液は濃度が低い方から順に入れてください。波長は自動的に設定されます。キットの製造元によって濃度を含むパラメータは異なるので、それに合わせて測定波長とスタンダードの数を変更することができます。Bradford, Lowry, Biuret ならびにBCA 法についての設定内容は同じです。

操作は以下のとおりです。

1. Set up

- Wavelength
- Curve Type：Regression（直線回帰）、Interpolation（直線捕間）、Spline（スプライン）から曲線の種類を選択します。
- No. of standard：3～9の範囲でスタンダードの数を選択します。
- No. of standard replicates：最大 3
- No. of sample replicates：最大 3
- Units：単位を選択します。

注意

・セル位置1 にリファレンスを入れてください。

・プロトコールは必要に応じて変更してください。変更をしたパラメータはメソッドとして保存できます。

変更例：セル位置1 にリファレンス用ブランクを、セル位置2 に濃度0.000 のバックグラウンドをセットし、スタンダード溶液をセル位置3以降にセットして測定

2. Concs

- 各スタンダードの濃度を入力します（濃度の低い順に入力してください）。
- Integration Time ： 0.1 、1 、2 、5 秒のいずれかを選択します。非常に薄い（または濃い）サンプルの場合は長めに設定してください。
- Save Method ：runキーを押してリファレンスを取ってから、runキーを押してサンプルを測定します。

注意

スタンダードとサンプルは別々に測定してください。

- 一連のスタンダード測定が終了したらmodeキーを押してconcsに戻り、濃度・吸光度データを必要に応じて保存してください。スタンダード（およびサンプル）番号と定量方法は、ディスプレイ上部に表示されます。

注意

表示ディスプレイ上でスタンダードの測定が終了してから、サンプルの測定を行ってください。

3. Graph

表示画面とプリントアウトにあわせてデータのサイズを調節します。

- Max Abs ： 最大吸光度を入力します。
- Min Abs ： 最小吸光度を入力します。
- Autoscale Y axis post run ： 自動スケールを選択する場合は、Yes を選びます。

4. Standards

スタンダード濃度と吸光度を測定後、表示する場合に使用します。スタンダードの測定が繰り返し行われた場合は、吸光度の平均値と標準誤差（SE）%が表示されます。Curve TypeにRegression（直線回帰）を選択していれば、勾配・切片・線形性が表示されます。

◆UV methods

1. Protein Impurity（核酸中のタンパク質混入度）

核酸溶液中のタンパク質の混入度を確認するために、Warburg と Christian*が結晶化酵母エノラーゼを使って導き出した方程式をもとにしてタンパク質濃度を自動的に算出します。ここでは、280 nm の吸光度を用いるため、タンパク質中にチロシンならびにフェニルアラニンが存在している場合に有効です。

$$\text{タンパク質濃度 (mg/ml)} = 1.55 \times (\text{Abs}_{\lambda 280}) - 0.76 \times (\text{Abs}_{\lambda 260})$$

特殊なタンパク質に式を対応させるためには、濃度既知タンパク質を260 nm および280 nm で吸光度測定し、相関係数を逆算することもできます。この場合、X とY （目的の相関係数）を変数として解く連立方程式になります。X 値が負の係数になる場合は、X 値をゼロに設定してください（260 nm での吸光度は、タンパク質濃度に全く寄与しないため負の係数が生じる場合があります）。また必要に応じてバックグラウンド吸光度を補正することができます。

＊ 参考文献 : Warburg and Christian, *Biochemisches Zeitung* **310**, 384 (1941).

$$\text{タンパク質濃度} = \text{ファクター1} \times (\text{Abs}_{\lambda 280} - \text{Abs}_{\lambda 320}) - \text{ファクター2} \times (\text{Abs}_{\lambda 260} - \text{Abs}_{\lambda 320})$$

注意

・λ320（バックグラウンド）はオプションなので、使用するかどうか選択できます。

・ファクターの設定値は変更可能です。直接λ280 でタンパク質を測定する場合、ファクター2 =0.00 に設定します。スタンダードとしてBSA (bovine serum albumin)を使用する場合は、ファクター1 =1.115 に設定することで0 ～0.8 mg/ml 間は直線的な結果が得られます。

操作は以下のとおりです。

・バックグラウンド補正が必要か選択します。

・ファクター1 を設定してください（初期設定値1.55 mg/ml）。

・ファクター2 を設定してください（初期設定値0.76 mg/ml）。

・このメソッドを保存するときはenterキーを選択します。

・画面左端の表示に従って、リファレンスおよびサンプルを入れrunキーを押します（リファレンスの次のサンプルがサンプル番号1 となります。表示の数字はサンプルを区別する番号であり、セルの位置ではありません）。

2. Empirical 280, 205 nm Method

タンパク質濃度（mg/ml）は次の実験式により推定できます。

タンパク質濃度 (mg/ml) = 27 + (120×A_{280} / A_{205})

※参考文献： Scopes,R.K. *Anal.Biochem.* **59**, 277- 282 (1974)

操作は以下のとおりです。

・ このメソッドを保存するときはenterキーを押します。

・ 画面左端の表示に従って、リファレンスおよびサンプルを入れ runキーを押すと、 RatioとConcentrationが表示されます。

3. Empirical 215, 225 nm Method

タンパク質濃度（μg/ml）は次の実験式により推定できます。

タンパク質濃度 (mg/ml) = 144×A_{215} / A_{225}

※参考文献：Waddel,W.J. *J.Lab.Clin.Med.* **48**, 311- 314(1956)

操作は以下のとおりです。

・ このメソッドを保存するときはenterキーを押します。

・ 画面左端の表示に従って、リファレンスおよびサンプルを入れrunキーを押すと、RatioとConcentrationが表示されます。

◆Infoキー

一般的なタンパク質について、A_{280}の測定値から濃度（mg/ml）へ換算する式、およびアミノ酸についての一般的な情報が参照できます。

Applications (アプリケーション)

◆Wavescan (波長スキャン)

波長に対する吸光度変化のグラフは、吸光スペクトルとして知られています。これは物質の物理的特徴の1 つであり、定性分析や定量分析の手段として有用です。吸光スペクトルは、分子中で起こりうる種々の電子遷移により生じ、そのピークは（溶液中では）幅広くなります。

スペクトルの導関数からは次に挙げる情報がさらに得られます。一次微分では、密接した多くのピークの同定ができます。二次微分からは、ピークショルダー（屈曲）の同定が可能です。そして四次微分は、同時に多ピークと屈曲、両方の同定ができます。

操作方法は以下の通りです。

1. Set up

- Start λ：開始波長を入力します（190～1090 nm）
- End λ：終了波長を入力します（200～1100 nm）
- Scan Speed*：スキャン速度を選択します（Fast, Medium, Slow）
- Data Interval*：データを測定する間隔を選択します（2、1、0.5、0.2または0.1 nm）
- Reference scan ：リファレンスのスキャンは臨時ベースラインになります
- Save Method ： 選択してenterキーを押すと、メソッドを保存できます
- 画面左端の表示に従って、リファレンスおよびサンプルを入れ、runキーを押します

* およそのスキャン速度（nm/min ）と測定波長間隔

Data interval, nm	2.0	1.0	0.5	0.2	0.1
Fast, m/min	4000	2400	1200	600	300
Medium, m/min	2400	1200	600	300	150
Slow, nm/min	1600	800	400	200	100

注意

・データ間隔が狭くなるほど、分解能は上がります。

・波長スキャンレンジの最大および最小は、データ間隔 0.2 nm の場合は 10～500 nm 、0.1 nmの場合は 10～250 nm となります。これらのデータ間隔で全波長レンジのスキャンを行うためには SWIFT II ソフトウェアを用いる必要があります。

2. Graph

以下の操作でポイントを入力すれば、正確な位置でズームが行えます。▼▲キーで選択項目に移動し、◀▶キーで選択またはテンキーで入力します。

- 開始波長を入力します。
- 終了波長を入力します。
- 軸のオートスケールを行う場合は◀▶キーで選択します。
- 最大吸光度を選択します。
- 最小吸光度を選択し、enterキーを押します。
- ズームしたいときは、カーソルをズームしたいピークに移動します。◀▶▼▲キーを押し続けることで、カーソルが移動します。

3. Overlay

導関数を選択してスケーリング機能によりスペクトルに重ねることができます。▼▲キーで選択項目に移動し、◀▶キーで選択またはテンキーで入力します。

- Off 、1st・2nd・4th Derivative、Smooth、Enhance、%Transmissionから◀▶キーで選択します。
- Scale、Offset をそれぞれ入力します。

4. Peak Table

この機能では、ピークテーブルがonに設定されている時に全スペクトルにおけるピーク吸光度と波長の値をリストアップします。ただし、ピーク幅が15 nm以上あるものについては、ピークとして認識しません。認識されないピークは◀▶キーでカーソルを移動して簡単に同定できます。平らまたは幅広のピーク上の波長値は正確ではないので、（ ）で示されます。結果は変更できません。ピークテーブルが on に設定されているときは、2 nmのData Intervalは選択できません。

◆Multiwave（多波長測定）

1. Abs Ratio（吸光度比）

Absorbance Ratio（吸光度比）は分子生物学分野で利用されている核酸の定量や純度試験に用いてください。

- λ1： 波長1 を入力します。
- λ2： 波長2を入力します。
- λB：バックグラウンド補正が必要ならば、バックグラウンドの波長を入力します。
- Factor：波長1 に対応するファクターを入力します。
- Units：単位を選択します。

注意：Unitの入力

2つの入力領域が表示されます。上が分子で下が分母になります。分数表記でない場合は上にのみ入力してください。

・メソッドを保存する場合はenterキーを押します。

・画面左端の表示に従って、リファレンスおよびサンプルをいれ runキーを押すと、Ratio、Concentration、Sampleが表示されます（リファレンスの次のサンプルがサンプル番号1 となります。表示の数字はサンプルを区別する番号であり、セルの位置ではありません）。

2. Abs Diff（吸光度差）

Absorbance Difference（吸光度差）は基質に干渉するバックグラウンド吸光度を補正する場合に用いてください。

・λ1：波長1 を入力します。

・λ2：波長2を入力します。

・λB：バックグラウンド補正が必要ならば、バックグラウンドの波長を入力します。

・Factor1 ：波長1 に対応するファクターを入力します。

・Factor2 ：波長2 に対応するファクターを入力します。

・Units ：単位を選択します。

注意：Unitの入力

2つの入力領域が表示されます。上が分子で下が分母になります。分数表記でない場合は上にのみ入力してください。

・メソッドを保存する場合はenterキーを押します。

・画面左端の表示に従って、リファレンスおよびサンプルをいれ runキーを押すと、Result、Sampleが表示されます（リファレンスの次のサンプルがサンプル番号1 となります。表示の数字はサンプルを区別する番号であり、セルの位置ではありません）。

3. 3 point net

3 point net は amniotic 液中のbilirubin 測定などの傾いたベースラインを示す濁状サンプルにおける正しいピーク高を測定する場合に用いてください。

・λ1：波長1 を入力します。

・λ2：波長2を入力します。

・λ3：波長3を入力します。

・Factor ：ピーク高 に対応するファクターを入力します。

・Units ：単位を選択します。

注意：Unitの入力

2つの入力領域が表示されます。上が分子で下が分母になります。分数表記でない場合は上にのみ入力してください。

・メソッドを保存する場合にはenterキーを押します。

・ リファレンスとサンプルをいれ runキーを押し、Height、Area、Sampleを表示します（リファレンスの次のサンプルがサンプル番号1 となります。表示の数字はサンプルを区別する番号であり、セルの位置ではありません）。

4. MultiWave（多波長測定）

Multiwave では最大9 波長の吸光度測定を同時に行うことができます。それらの測定値と最大9つの異なる係数を用いて、2 つまでの計算式に当てはめ、サンプルの純度や濃度を求めることができます。

備考

計算式はあらかじめ紙などに書いて用意しておくと入力の際に便利です。次ページに入力例が記載されていますのでご参照ください。

4.1 Set up

・No. of λ's：測定波長の数（最大9波長）

・λ1：測定波長1

各波長を短い順に入力してください。

・Integration Time：0.1、1、2、5秒のいずれかを選択します。非常に薄い（または濃い）サンプルの場合は長めに設定してください。

4.2 Factors

計算式に用いるためのファクター、係数を入力します。

・Dilition Factor, C：サンプルの希釈率を入力します。

・K1：係数1を入力します。

注意

マイナスの値を入力する場合は、C キーを押してから数字を入力してください。数値は小数点以下第2位まで入力できます。

4.3 Equation 1 and Equation 2

・ Description：計算式の名称

・ Equation：計算式

・ Units：単位を選択します。

注意：Unitの入力

2つの入力領域が表示されます。上が分子で下が分母になります。分数表記でない場合は上にのみ入力してください。

・Enable Equation：選択

・メソッドを保存する場合enterキーを押します。

・画面左端の表示に従って、リファレンスおよびサンプルをいれrunキーを押して、Equation 1 と Equation 2 の計算結果を表示します。

《Multiwaveモードでの計算式入力例》

計算式を入力する際には、あらかじめ式を書き出しておくと分かりやすくなります。

次の式を例に、入力の流れをステップバイステップで示します。

Cobalt (g/l) ＝ ((2.26×A_{511}) − (0.30×A_{720}))×100 ・・・ Equation 1

Nickel (g/l) ＝ ((−0.40×A_{511}) − (27.41×A_{720}))×100 ・・・ Equation 2

※ 数値はキーパッドで入力します。各値の入力の後はenterキーもしくは▼キーを押します。

1. Set up

No of λ's	2
λ 1	511
λ 1	720
Integration time	Default

2. Factors

C	100
K1	12.26
K2	0.30
K3	-0.40 ＊1
K4	27.41 ＊2

＊1 最初にCキーを押して、マイナス記号を表示させます。

＊2 enterキーを2回押して終了します。

※ 数値は小数点以下第2位まで入力できます。

3. Equation 1◀

※ 各値の入力の後はenterキーもしくは▼キーを押します。入力を間違った場合はCキーを押して消去します。

	入力	キー	動作
Description	Cobalt	▶	押すとキーパッドが現れます。 Enter キーで一文字ずつ決定します。 Stop キーでキーパッドが消えます。
		◀	入力済みの文字を消去できます。
Equation		◀▶	一文字ずつ選択し、enter キーで決定します。 間違えたときは、C で消去します。
Units	g	◀◀▶▶	選択
	l	◀▶	選択
Enable equation	=	▶	選択
Save Method		◀◀▶▶	選択

※ Equation 2 も同様に入力できます。

◆Kinetics（カイネティックス）

時間ごとの吸光度の変化をグラフ化し、反応速度を測定するカイネティクス解析に使用します。詳しくは付録を参照してください。

1. Set up

- Wavelength：波長を入力します。
- Factor：ファクターを入力します。
- Units：単位を選択して設定します。
- Auto set ref：解析開始時にリファレンスをセル 1 に設定しますか？
  yesであれば、enterキーを押す。
- 臨床検査キット解析にファクターを用いる場合には反応時間をインターバル時間と同じに設定してください。

2. Timing

- Mode：Serial（シリアル）／Parallel（パラレル）モードを選択します。

注意

Parallelモードでは複数解析を同時に行います。

＜SerialモードとParallelモードの共通項目＞

- TimeUnits：秒または分？
- Delay：遅延時間は（0 ～1000）？
- Reaction time：遅延時間を含めた時間は？
- Interval：タイムインターバル。最大データポイント数は600。Parallelモードの場合、最小インターバルは10 秒
- Save Method：Yesであればenterキーを押します

＜Parallelモードの場合にのみできる項目＞

- No. of samples：最大8個、Active Referenceを選択した場合には最大7個
- Active reference：時間経過にともないリファレンスが変化する場合▶キーを押す

- Serialモードの場合：サンプルを入れてrunキーを押します
- Parallelモードの場合（時間経過にともないリファレンスが変化する場合）：
  リファレンスとサンプルを入れてrunキーを押します

備考

SOUNDがON になっているとタイムインターバルごとに装置はクリック音を出します。変更する時にはFunctionキーを押し、Set up中のuserの項目中のSOUNDをOFF にします。

時間と吸光度はタイムインターバルごとにアップデートされ、スロープ（ΔA／分）は線で表示されます。解析終了時に、結果（Slope×Factor）が最後の5データポイントの下部に表示されます。スロープは最も勾配が大きい直線部分で計算され、post runで作動後に校訂することもできます。

3. Graph

・Maximum Abs：最大吸光度

・Minimum Abs：最小吸光度

・Autoscale Y axis：Y軸の自動スケールを行います。

・Show Data Points：解析ごとにデータポイントを表示します。

・Plot graph when printing results：グラフをプリントします。

4. Post Run

スロープを選択し（Parallel モードで）結果の至適化を図るために再設定します。

・Sample number

Results：Initial Abs
Final Abs
Slope
Slope × Factor (Result)
Linearity

・Start time
・End time
} スロープを手動で決定します。

・Auto find end points：

Yesの場合： 自動的に回帰直線の最終点を算出します。

Noの場合： 入力した開始および終了時間をもとにスロープを算出します。

◆Std Curve（スタンダードカーブ）

標準曲線を作成すると、濃度既知の一連のサンプル（スタンダード）の吸光度プロットから、必要な試料サンプル（サンプル）の濃度を算出することができます。この方法を使ったタンパク質量決定を前述しましたが、その他廃液中の金属錯体や塩、殺菌剤の分析にも応用できます。ファクターを使うこともできるので、吸光度値およびファクター結果が表示されます。

スタンダード用に3つのカーブフィッティング法から選択できます。

直線回帰： 最小二乗法を用いデータ点間の至適直線を推定します（3データポイント以上が必要です）

直線補間法： 直線により連続したデータ点を結びます。

スプライン： natural cubicスプラインフィッティング法を用い、データ点を通じた至適曲線を計算およびフィッティングさせます（4データポイント以上が必要です）。

1. Set up

・Wavelength：波長を入力します。

・Curve Type：Regression（直線回帰）、Interpolation（直線補間）、Spline（スプライン）、Factor（ファクター）から曲線の種類を選択します。

・Factorを選択した場合は、ファクターを入力します。

・Factorの場合：Number of standards（3～9）

・Factor以外の場合：Number of standard replicates（最大3）
Number of sample replicates （最大3）

・Units：単位を選択

注意

・Unitについては2つの入力領域が表示されます。上が分子で下が分母になります。分数表記でない場合は上にのみ入力してください。

・リファレンスは常にセル位置1 に入れ、吸光度0.000 、濃度0.000 とします。スタンダードは低濃度のものから順に入れます。

・直線回帰およびスプラインは、それぞれ3 点および4 点以上のデータが必要です。

2. Concs

各スタンダードの濃度を入力します（濃度の低い順に入力してください）。 Set up で入力した数だけ表示されます。

・ Integration Time ：0.1 、1 、2 、5秒のいずれかを選択します。非常に薄い（または濃い）サンプルの場合は長めに設定してください。

・Save Method：Yesの場合、enterキーを押します。

・Runキーを押してリファレンスを取り、続けてrunキーを押してサンプルを測定します。

注意

スタンダードとサンプルは別々に測定してください。

・ 一連のスタンダードを測定し終えたら、modeキーを押してconcに戻り、必要に応じて濃度・吸光度データを保存してください。

3. Graph

・ Maximum Abs： 最大吸光度

・ Minimum Abs： 最小吸光度

・ Autoscale Y axis post run：Yesを選択すると、Y軸の自動スケールが行われます。

4. Standards

スタンダードの濃度と吸光度を表示する際に使用します。スタンダードの測定が繰り返し行われた場合は吸光度の平均値と標準誤差（SE）%が表示されます。

5. Running Samples（サンプル測定）

サンプルは一つずつ別々に測定します。スタンダード測定後（もしくはメソッドとして呼び出した後）サンプルを入れ表示ディスプレイ上の指示に従ってください。それぞれのサンプルごとにrunキーを押してください。

サンプル吸光度がキャリブレーション曲線両端の10%未満である場合、直線補外できます。これはディスプレイ表示およびプリントされます。GLP設定中はこれは適用されません。

◆Substrate (基質分析)

この方法を用い、濃度既知の一連のサンプル（スタンダード）の反応速度プロットから、必要な試料サンプル（サンプル）の濃度を算出することができます。試薬キットを使用すれば、酵素を基にした基質濃度分析により食品工業や医薬品化学分析において迅速な構成物質の定量ができます。吸光度はアッセイの開始時と終了時の2 点で測定し、両点ともアッセイの直線相にある必要があります。反応速度（傾き）はこれら2 回の測定に対してユーザーが設定した時間間隔での吸光度変化と定義されます。

Standard Curve（標準曲線）と同様の曲線フィッティング法を用いることができます。

医薬品検査キット分析にも使用できます。経時による吸光度変化が必要な場合にはKineticsを選んでください。

1. Set up

- Wavelength：波長を入力
- Curve Type：直線回帰、直線補間、スプライン曲線から選択
- No.of Standards：3～9
- No.of Sample Replicates ： 最大 3
- No. of Standard Replicates ：最大 3
- Units ：単位を選択

注意

- 2つの入力領域が表示されます。上が分子で下が分母になります。分数表記でない場合は上にのみ入力してください。
- リファレンスは常にセル位置1 に必ず入れ、吸光度0.000 、濃度0.000 とします。
- 直線回帰およびスプラインには、それぞれ3 、4 点以上のデータが必要です。

2. Timing

- Time units ：秒または分？
- Delay ：遅延時間は（0- 1000）？
- Reaction time：遅延時間を含めた時間は？

3. Concs

- スタンダード濃度を低いものから入力します。
- Save Method ：保存するのであれば▶キーでチェックを入れます。

注意

スタンダードとサンプルは別々に測定してください。

- 一連のスタンダードを測定し終えたら、mode キーを押して、 concに戻り濃度・吸光度データを必要に応じて保存してください。

4. Graph

データのスケール設定を行い、LCD やプリントアウトの表示を規定します。

・Maximum Abs：最大吸光度

・Minimum Abs：最小吸光度

・Autoscale Y axis post run：Yesを選択すると、Y 軸の自動調整が行われます。

5. Standards

スタンダードの濃度と吸光度を表示する時に使用します。スタンダードの繰り返し測定が行われれば吸光度の平均値と標準誤差（SE）%が表示されます。

6. Running Samples サンプル測定

サンプルはひとつずつ別々に測定します。スタンダードを測定後 （もしくはメソッドとして呼び出した後）サンプルを入れ表示ディスプレイ上の指示に従ってください。サンプルごとにrun キーを押してください。

装置のユーティリティー

functionキーを押して各項目に移動します。

◆Accessory (アクセサリー)

装着しているセルホルダー／セルチェンジャーの種類を装置に認識させます。交換した場合は必ず認識させてください。

マルチポジションセルチェンジャーは、必要に応じてシングルセルホルダーとして使用することもできます。

◆Printer (プリンター)

推奨プリンターはSeiko DPU-414です。

◆Display (ディスプレイ)

▶キーでディスプレイのコントラストを調整します。

バックグラウンドを白くする場合には、high contrastを選択します。

◆GLP

装置のセットアップでGLPが選択されている場合のみ有効です。詳細は付録（48ページ）をご参照ください。

GLPキャキャリブレーション結果が表示されます。

◆Set up (セットアップ)

1. User（ユーザーパラメーターの設定）
   - ・オペレーター名を入力します。
   - ・研究室名を入力します。
   - ・必要に応じて、装置の資産管理番号やメモを入力します。
   - ・サウンドの有無を▶キーで選択します。有効にするとキー操作、シッパー稼動、カイネティクスの時間カウントの際に、「ピッ」という音が鳴ります。
   - ・GLP自己診断の有無を▶キーで選択します。
   - ・キャリブレーション後にenterキーを押すと、装置の状態が許容範囲内かどうか確認することができます。
   - ・結果のプリントアウトにはGLPに準じた情報がヘッダーとして記載されます。（GLP自己診断を無効にしていても、装置のキャリブレーションは通常通り実行されます）。
   - ・測定ごとに、基礎情報と結果がプリントアウトされます。
   - ・測定結果の出力先（プリンターのみ、PCのみ、プリンターとPC両方）を、▶キーで選択します。

・必要に応じて、測定終了時のパラメーターやグラフのAuto-printを▶キーで選択します。
・PCに出力する場合はAuto-printを有効にしてください。そうでない場合は、printキーを押すと出力されます。PCへの出力（33ページ）をご参照ください。

2. Baseline（ベースラインの設定）

表示項目（View、New、Save、Restore）を、▶キーで選択します。

・初期値はViewに設定されており、現在の設定を確認できます。
・Newを選択すると、ベースラインを新規に設定します。
・新規ベースラインを継続的なものにする場合には、Saveを選択します。
・新規ベースラインの作成後、保存されているベースラインに戻す場合は、Restoreを選択します。

3. Clock（日付と時刻の設定）

キーを押してモード内に入り、適切な日付、時刻を入力します。

4. Service

パスワードの入力が必要な、弊社のサービスエンジニア専用のモードです。

アルファベットの入力

必要に応じて、初期値として入力されている文字（ハイライト表示されています）を、◀キーを使って消去します。

テンキーがアルファベットに対応します。1はスペースキーになります。キーを押すたびにたとえば2キーでは「2、a、b、c、2、A、B、C」が入力できます。

入力を間違えた場合は、Cキーで消去します。

stopキーを押して入力を終了します。

備考

文字入力が行える項目で▶キーを押すと、アルファベットキーパッドが表示されます。◀▶▼▲キーを操作して文字を選択し、enterキーで確定します。最後にstopキーを押して入力を終了します。

プリンターへの出力

Auto-printが有効になっている場合は、パラメーターやグラフが自動的にプリントアウトされます。測定モードのSet upページでprintキーを押すと、そのモードの測定パラメーターがプリントアウトされます。測定結果がディスプレイに表示された後にprintキーを押すと測定パラメーターとグラフがプリントアウトされます。

PCへの出力

PCにスプレッドシートインターフェースソフトウェア（80-2110-73；装置に付属）をインストールし、シリアルインターフェースケーブル（80-2105-97；装置に付属）で装置と接続すると、測定結果をExcelに直接ダウンロードすることができます（詳細な手順はソフトウェア添付の説明書参照）。スキャンデータ等の吸光度／波長データは、数値カラムとしてピックアップすることができます。スプレッドシートを用いることにより、より一般的なグラフに変換することができます。結果は適宜フォーマット・加工し、レポートに掲載したりハードディスクに保存することができます。

すべての測定結果はこの方法で出力することができます。printキーを押すと自動的に出力されます。

エラーメッセージ

表示されるメッセージは操作の説明、または前後の装置の操作と関連した補足説明になります。

その他のものは、電源投入時の装置のキャリブレーションに関連しています。

メッセージ	考えられる原因/解決方法
Calibration status: Fail	GLP キャリブレーションで、1 つもしくは複数のパラメーターが仕様を満たしていません（48 ページ参照）。メッセージを OK して、普段どおり装置を使用するか、少し経ってから電源を入れなおしてください。必要であれば弊社までご連絡ください。
Calibration status: visible only	可視領域しかキャリブレーションできません。ランプを確認し、必要であれば交換してください（43 ページを参照）。
Calibration status: UV only	紫外領域しかキャリブレーションできません。ランプを確認し、必要であれば交換してください（43 ページを参照）。
Failed to align visible lamp	ディテクターに十分なエネルギーの光が届いていません。可視光ランプ（タングステンランプ）を交換してください。
Abs Non-Linear	装置の温度が低い、フィルターが汚れている、もしくは 4 分円フィルターがアライメントされていません。少し経ってから電源を入れなおしてください。回復しない場合は弊社までご連絡ください。
Too much light	ベースプレートプラグが正しく装着されているかを確認し、セルコンパートメントの蓋を正しく閉めてください。
Beam blocked	ディテクターに十分なエネルギーの光が届いていません。セルがビームを遮っていないかどうか確認してください。
> 3.0	サンプルが濃すぎるか、何か光を遮る物があります。
! C	アクセサリーが正しく取り付けられていません。

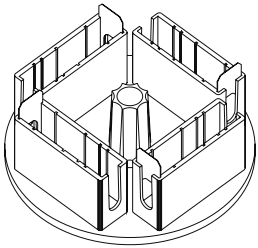
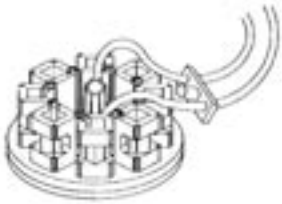
アクセサリー

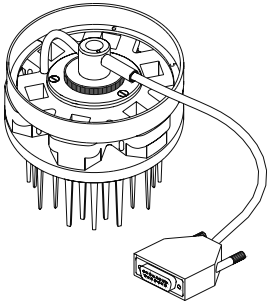
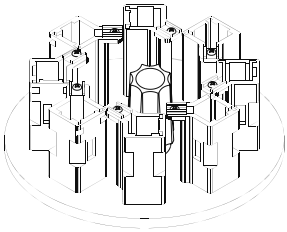
アクセサリーを交換した際は、Functionキーを押してAccessoryを選択し、新しく取り付けたアクセサリーを装置に認識させます。アクセサリーの種類によっては、いくつかの選択項目が表示されます。

マルチポジションセルチェンジャー

装着されているアクセサリーを取り外し、新しいアクセサリーを装着します。中央部のネジを手で絞めて取り付け、上記の操作で初期化します。

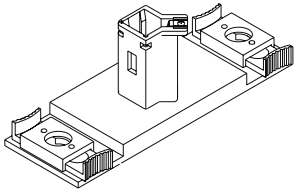
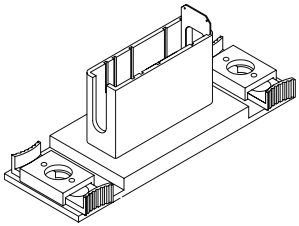
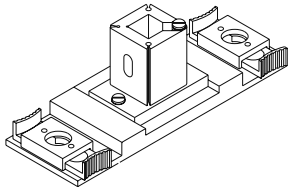
マルチポジションセルチェンジャーはシングルセルホルダーとしても使用することができます。その場合は、測定キーを押してもホルダーは回転しません。

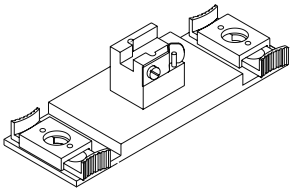
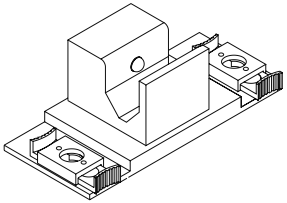
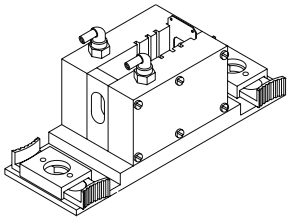
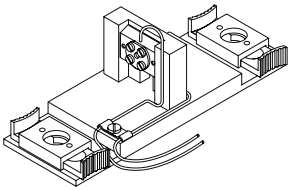
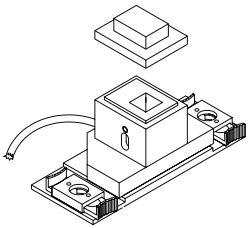
製品名	コード番号	特徴
4 連セルチェンジャー 	80-2106-01	光路長 10 ～ 50 mm のスタンダードセルが使用できます。
8 連サーモセルチェンジャー 	80-2109-70	別途、恒温循環装置が必要です。チューブ止め具の円筒形の突起が、セルホルダーの指ネジの上にはまるように設置します。チューブガイドを付属のネジを使用して装置のベース部分に取りつけます。セルコンパートメントの遮光プラグをセルホルダー付属のものと取り替えます。

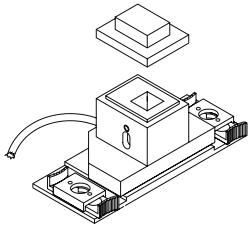
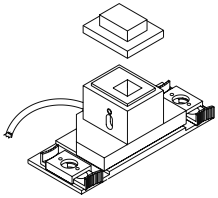
6 連サーモセルチェンジャー (ペルチェ） 	80-2106-04	別途、ペルチェ電子温度コントロールユニット（80-2105-49）が必要です。装置本体のソケット 3 に接続します。
8 連セルチェンジャー （スペア） 	80-2108-01	装置に標準で付属している 8 連セルチェンジャーのスペアです。

シングルセルホルダー

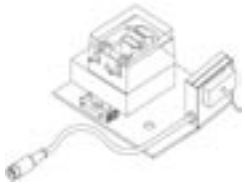
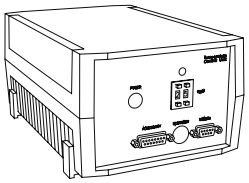
装着されているアクセサリーを取り外し、ベースプレートプラグを取り付け、シングルセルホルダーをホルダーに記された矢印が手前になるように装着します。ホルダーの両端にあるロックを奥にスライドさせてホルダーを固定します。最後にマルチポジションセルチェンジャーと同様の操作で初期化します。

製品名	コード番号	特徴
セルホルダー 	80-2106-05	光路長 10 mm までのスタンダードセルが使用できます。
セルホルダー 	80-2106-07	光路長 10 ～ 50 mm のスタンダードセルが使用できます。
セルホルダー	80-2107-14	光路長 100 mm のボートセル用です。
ウルトラマイクロボリュームセルホルダー 	80-2106-06	5 µl セル（80-2103-68）および 70 µl セル（80-2103-69）用です。

マイクロボリュームセルホルダー 	80-2106-09	50 µl セル（80-2076-38）用です。
円筒セルホルダー 	80-2106-10	光路長 100 mm までの円筒が使用できます。
サーモセルホルダー 	80-2106-08	光路長 10 ～ 40 mm のスタンダードセルが使用できます。別途、恒温循環装置が必要です。セルコンパートメントの遮光プラグをセルホルダー付属のものと取り替えます。
HPCL セルホルダー 	80-2106-11	フローセルは容量 8 µl、光路長 2.5 mm です。ワイヤーをチューブガイドの穴に通し、付属のネジを使用して装置のベース部分に取り付けます。セルコンパートメントの遮光プラグをセルホルダー付属のものと取り替えます。
サーモセルホルダー（ペルチェ） 	80-2106-13	20 ～ 49℃の範囲で温度設定できます。装置本体のソケット 2 に接続します。

恒温セルホルダー 	80-2106-12	25、30 および 37℃で温度設定できます。装置本体のソケット 2 に接続します。
Tm 値測定用プログラマブルペルチェセルホルダー 	80-2106-14	SWIFT Tm ソフトウェアが付属しています。20 ～ 105℃の範囲で温度設定できます。DNA/RNA 変性の研究に利用されます。別途、ペルチェ電子温度コントロールユニット（80-2105-49）および接続用ケーブル、PC が必要です。ホルダーは装置本体のソケット 1 に接続します。

その他のアクセサリー、消耗品

製品名	コード番号	特徴
シッパー 	80-2112-15	多数のサンプルを続けて測定するときに使用します。シングルセルホルダー（80-2106-05、80-2106-06、80-2106-07、80-2106-12 もしくは 80-2106-13 のいずれか）が必要です。シッパーフローセル（80-2080-60）およびチュービングが付属しています。
ペルチェ電子温度コントロールユニット 	80-2105-49	6 連サーモセルチェンジャー（80-2106-04）および Tm 値測定用プログラマブルペルチェセルホルダー（80-2106-14）を使用する際に、外部電源として必要になります。
プリンタースタンド	80-2112-13	サーマルプリンター（71-0496-01）用です。
ダストカバー	80-2106-19	装置に標準で付属しているもののスペアです。
シッパー用ポンプチューブ	80-2080-74	6 本入り
PETE フローセルチューブキット	80-2055-13	
シッパーフローセル	80-2080-60	
シリアルインターフェースケーブル	80-2105-97	
スプレッドシートインターフェースソフトウェア	80-2110-73	
プリンターケーブル	80-2071-87	
サーマルプリンター	72-0496-01	Seiko DPU-414
プリンター用紙	71-1600-04	10 ロール入り
ウルトラマイクロボリュームセル	80-2103-68	容量 5 µl
ウルトラマイクロボリュームブラックセル	80-2103-69	容量 70 µl

※ シリアルおよびパラレルインターフェース接続に関するより詳細な情報が必要な場合は、弊社までご連絡ください。

SWIFT II アプリケーションソフトウェア

SWIFT II アプリケーションソフトウェアは、波長スキャン、カイネティクス、定量、多波長測定、経時測定、フラクション解析、培養液濁度測定、Tm値測定の8つのモジュールで構成され、装置内蔵のソフトウェアの機能を拡張することができます。SWIFT-II - METHOD、SWIFT II - LABおよびSWIFT II - SPECIALISTの3種類のパッケージがあります。

製品名	コード番号	特徴
SFIFT II - METHOD	80-2108-31	波長スキャン、カイネティクス、定量、多波長測定、経時測定、フラクション解析、培養液濁度測定、Tm 値測定の全 8 つのモジュールすべてを含みます。
SFIFT II - LAB	80-2108-26	波長スキャン、カイネティクス、定量の 3 つのモジュールで構成されます。
SFIFT II - SPECIALST	80-2111-91	多波長測定、経時測定、フラクション解析、培養液濁度測定、Tm 値測定の 5 つのモジュールで構成されます。

推奨するPCの仕様

最適なパフォーマンスを得るには、次の仕様を満たしていることをおすすめします。

プロセッサ：IBM互換486もしくはそれ以上

OS：Microsoft Windows 95, 98, XP, NT, 2000

RAM：8MB以上

ハードディスク空容量：500 MB以上

3.5インチフロッピーディスクドライブ

CD-ROMドライブ

COMMSシリアルポート×1
（Tmプログラムペルチェアクセサリに付属したSWIFT-Tmを使用するときは、外部シリアルポートがもう一つ必要です）

VGA対応モニター

詳細は弊社までご相談ください。

21 CFR part11 compliant SWIFT II アプリケーションソフトウェア

21 CFR part11 compliant SWIFT II アプリケーションソフトウェアは、FDA 21 CFR Part11に準拠したソフトウェアで、SWIFT IIで測定したデータの電子記録、電子署名などの操作が可能になります。FDA 21 CFR Part11に準拠した分析・品質管理をご希望の、すべてのユーザーに必須のソフトウェアです。ソフトウェアはクライアントサーバー型のネットワークシステムでの利用が可能ですが、PC1台での使用も可能です。

製品名	コード番号
21 CFR part11 compliant SWIFT II アプリケーションソフトウェア	80-2117-57

波長スキャン、カイネティクス、定量、多波長測定、経時測定、フラクション解析、培養液濁度測定、Tm値測定、CFRアドミニストレーターの全９つのアプリケーションで構成されます。

推奨するPCの仕様

21 CFR part11 compliant SWIFT II アプリケーションソフトウェアはネットワークでの使用を想定しているため、次の日本語Microsoft Windows OSでお使いください。

NT 4.0 with Service Pack 6

2000 with Service Pack 2 or 3

XP with Service Pack 1

また、少なくともサーバーPCの1台は、すべての人がローカルログオンできるようNTFS（New Technology Filing System）フォーマットされていることが必要です。FATやHPFSでは代用できません。詳しくは、弊社の技術サービスまでお問合せください。

メンテナンス

アフターサポート (保守)

弊社は、ユーザーがGLP/GMPに関する規約のガイドラインを履行するためのサポートを行います。

- キャリブレーション、国際標準に準じたフィルターによる評価
- 有資格エンジニア、キャリブレーション済みテスト機器
- ISO 9001標準に適合

故障時の補償とは別途、以下の項目を選択することができます。

- 予防的メンテナンス
- 証明書

注意

- キャリブレーションスタンダードフィルターを使用する際は、フィルターの滑らかな面がセルホルダーのバネが取り付けてある側の反対に向くよう、ホルダーに挿入してください。
- 危険なサンプルもしくは溶媒を扱う際には、必要な予備措置を必ずとってください。
- ユーザによるメンテンナンスは、ランプとメインヒューズの交換に限定されています。その他の保守や調整については、弊社までご連絡ください。

ランプ交換

交換用のランプは、代理店から購入できます。コード番号は以下の通りです。

製品名	コード番号
重水素ランプ（タングステンランプ付属）	80-2106-17
タングステンランプ	80-2106-16

重水素ランプはプレートに取り付けられた状態で供給され、新しいタングステンランプも付属しています。

注意

- 重水素ランプの保証にはエンジニアによる交換の費用は含まれていませんが、エンジニアのアドバイスを受けることができます。ランプ交換は非常に簡単で、サービスエンジニアなしで交換できるようになっています。装置のキャリブレーション時に、ランプの最大エネルギースループットが得られるよう、ランプセレクトミラーが自動的に調整を行うため、ユーザーがランプ調整を行う必要はありません。
- ランプは大変熱くなります。交換は、ランプを十分冷ましてから行ってください。
- ランプの表面を素手で触れないでください（ティッシュペーパーを使用してください）。触れてしまった場合は、イソプロパノールで拭いてください。

ランプの交換方法

1）装置の電源を切り、セルホルダーよりサンプルを取り出し、電源ケーブルを抜きます。ランプが冷めるまで待ちます。

2）装置の左後側にあるランプ収納部のカバーのネジをドライバーで外し、カバーを外します。

3）ランプ選択ミラーをランプボックス側に向けます。

4）黒い止めネジを手でゆるめ、ランプカバープレートを外します。

5）ランプアッセンブリーを固定している大きめのネジをプラスドライバーで外します（アッセンブリーが向かって左側を支点として上昇してきます）。

6）ランププレートを向かって右側にスライドさせてランプアッセンブリーから抜き出し、続いてケーブルコネクターを抜きます。

7）タングステンランプが切れた場合には、ランププレート上のホルダー内の切れたランプを上向きに引き抜き、新しいランプを下まで挿入します。

8）重水素ランプが切れた場合には、上述のようにタングステンランプをランププレート上に取り付けて、新しいランプが付いたプレートアッセンブリーごと交換します。

注意

重水素ランプはプレートに取り付けられた状態で供給され、新しいタングステンランプも付属しています。

9）ケーブルコネクターを再接続してランププレートを奥までスライドさせます。

10）ランプアッセンブリーを押し下げ、大きめの止めネジをプラスドライバーで固定します。

11）黒い止めネジを手で締めて、ランプカバープレートを取り付けます。

12）カバーを装着し、マイナスドライバーで止めネジを固定します。

13）電源コードを接続して装置のスイッチを入れます。自動的に初期設定がおこなわれます。

重水素ランプの保証

重水素ランプ交換期限の目安は、装置ご購入後15ヶ月もしくは、ご使用時間750時間以内です。

ヒューズの交換

1）装置の電源を切り、電源ケーブルを抜きます。ヒューズホルダーは、装置の後部パネルの電源ソケットの下にあり、電源コードを外さなければ開かないようになっています。電源ソケットの金属部には絶対に触れないようにしてください。

2）ノッチを引いてヒューズホルダーを開きます。

3）ヒューズ（2AT、5 mm×20 mm、FST）2個をヒューズホルダーに入れ、元通りに閉じます。

4）電源ケーブルを接続し、装置の電源を入れます。

注意

ヒューズは通常、装置の寿命まで切れることはありません。頻繁に切れる場合は弊社までご連絡ください。

装置のクリーニングと一般的なメンテナンス

装置の外部のクリーニング

・装置の電源を切り、電源ケーブルを抜きます。

・湿らせた柔らかい布を用意します。

・装置の外部表面を拭きます。

・落ちにくい汚れには薄い液体洗剤を使用してください。

サンプルコンパートメント部のクリーニング

・装置の電源を切り、電源ケーブルを抜きます。

・セルホルダー、ベースプレートプラグおよびサンプルコンパートメント部は、化学耐性のある仕上げになっていますが、非常に濃度の高いサンプルがこぼれた場合には、表面を損傷する可能性があるので、速やかに拭き取ってください。

・危険なサンプルもしくは溶媒を扱う際には、必要な予防措置をとってください。

・サンプルコンパートメント内部には小さな排水口があり、こぼれた液はここを通じて本体底部より実験台上に排出されます。必要に応じて適当なチューブを排液入れに接続してください。

・セルホルダーは取り外して、別個にクリーニングしてください。

・サンプルコンパートメント部を拭く場合は、乾いた柔らかい布を使用してください。

・電源ケーブルを接続し、装置の電源を入れます。

付録

Pharmacopoeia (薬局方)

研究施設が一定の基準を満たしているかどうかを、Good Laboratory Practice (GLP)の手法により確認する必要性は増大してきています。遺伝子治療に使えるような溶液を探索することに強い関心をもつ製薬企業やバイオテクノロジー施設において、この傾向は特に顕著です。特に製薬あるいはバイオ製薬研究に携わる研究者、大学や企業研究者もメソッド開発が可能で、かつより高性能な装置を求めています。

薬局方では解像度を次のように定めています：

> 装置の解像度を確かめるためには、ヘキサン中の0.02 % (v/v)トルエンの20℃±1℃の温度で吸光極大（269 nm）と極小（266 nm）の比を測定する。
> ※ バンド幅1 mmの装置ではこの比は2.0～2.1になる。

The European Pharmacopoeia (1984, V.6.19, 2nd Edition)では迷光を次のように定めています：

> 装置の迷光を確かめるためには、水をリファレンスとして1.2 % w/v 塩化カリウム溶液を光路長1 cmで測定した時の吸光度が、2.000 以上となるべきである。

本装置はこれらのPharmacopoeia（薬局方）を満たしており、その事を示す最終試験証明書が添付され、出荷されます。"Instrument Qualification and PerformanceVerification Logbook" を保存したCD-ROMも同梱されます。このCD-ROMには薬局方の承諾を得るために必要な種々の試験が詳述されており、結果をプロットして経時変化をチェックできるようになっています。

Good Laboratory Practice

Good Laboratory Practice では装置及びオペレーターごとの試験結果とその結果を出した日付を確認でき、装置が正しく機能しているかどうかを検証できることが必要です。 分光光度計には 実験室、オペレーター、装置内部リファレンスの各名称が入力できます。キャリブレーションまたは再キャリブレーション時に本装置は、ユーザーが通常操作に入る前に確認できるよう各パラメータをチェックし、その状況を表示します。“GLP PRINT OUT ”がON の場合にはこれらテストの結果がプリントされます。日時ならびに操作状況は、パラメータとともにプリントされます。GLP では、すべての実験結果のもととなるデータの記録保管が義務づけられています。 “GLP PRINT OUT ”をON にすることにより、これらの作業がすべて自動的に行われ、結果を記録します。

GLP自己診断テスト

装置がGLP 規準を満たしているかについては以下の項目から判断されます。

- 装置のキャリブレーション状況
- 交換時と比較したランプの使用時間
- 656 nm 重水素の輝線と比較した波長の精度
- 装置製造時と比較したビルトイン吸光フィルター値
- 装置の迷光

期待値はキャリブレーション後、GLP プリントアウト上にカッコ内で示されます。各値の許容範囲は装置の技術仕様に定義されています。

万一、装置がキャリブレーション不能になったり仕様から外れる場合は、表示パネル上に一連のエラーメッセージが表示され、最後に“GLP CALIBRATION FAIL ”が表示されます。これらのメッセージはenter キーを押すごとに表示されてきますので、本書に紹介されているエラーメッセージ（35ページ）を参照してチェックしてください。プリンタを接続していると、これらの内容が印字できます。

以下の点について確認してください。

- セルコンパートメントのふたが正しく閉じられているか。
- サンプルが光路に置かれていないか（置かれていたら取り除いてください）。
- ベースプレートプラグがセットされているか（シングルセルアクセサリ）。
- セルコンパートメントの正面のブランク栓がセットされているか。

“GLP CALIBRATION FAIL ”のメッセージが表示された後、装置の状態を確認したらenter キーを押してください。GLPキャリブレーションが不調であっても個々のプロトコールに従った実験の測定は可能です。GLP プリントアウトを確認の上、お近くのサービスエンジニアに連絡してアドバイスを受けることをおすすめします。

キャリブレーション中に"GLP Enabled"が設定されている時は、電源投入後キャリブレーションを開始するまでに（作動温度に達するまで）10分間待機します。LCD （液晶ディスプレイ）には、メッセージが表示されますので、中止する場合は Stopキーを押してください。

装置キャリブレーション後の（GLP Enabled）のプリントアウト

Ultrospec 6300pro UV/Vis Spectrophotometer

Lab name .....

Instrument .....

Serial no : 81012
Software : 4197 V1.4, Slave 4194 V1.0
Last serviced : 14/08/00 13:36

Instrument state at calibration

GLP Calibrated 09/10/00 at 12:56
Calibration Full UV/Visible

Bandwidth (1.3- 1.8nm): 1.7nm PASS
Wavelength (656.1nm) : 656.0nm PASS

Absorbance at
220nm (1.763-1.781A) : 1.772A PASS
340nm (1.633-1.665A) : 1.649A PASS
500nm (1.477-1.491A) : 1.484A PASS

Stray light at
220nm (<0.025%T) : 0.013%T PASS

UV lamp : 85 % of original energy
Vis lamp: 95 % of original energy

Current instrument state

Accessory: Eight Position Cell Changer

UV lamp :
installed 14/08/00 13:35, use 5 hours
baseline in use: 14/08/00 13:38
baseline stored: 14/08/00 13:38

Vis lamp :
installed 14/08/00 13:35, use 5 hours
baseline in use: 14/08/00 13:38
baseline stored: 14/08/00 13:38

※ GLP Enabled がチェックされている時にはキャリブレーション測定結果がプリントアウトされます。

Reaction Kinetics（反応速度論）

変換ファクターの速度論的測定および計算

酵素反応速度を測定する一般的な方法では、反応に関わる一つの基質の濃度変化または一つの反応生成物の濃度変化をモニターします。ここではアラニントランスアミナーゼ（ALT）酵素反応を例に取り上げます。

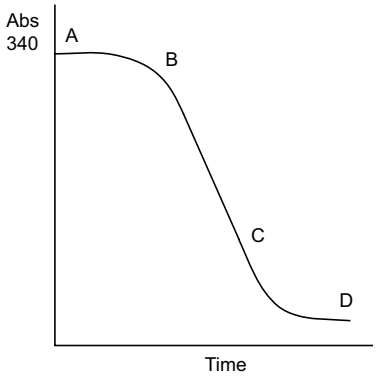
α-オキソグルタミン酸＋アラニン ⇔ ピルビン酸＋グルタミン酸

ピルビン酸の生成速度を測定する場合には、直接測定することはできないため、NADHと乳酸デヒドロゲナーゼ（LDH）酵素が関わる他の酵素反応を組み合わせて測定を行います。その反応式を次に示します。

ピルビン酸＋NADH＋H^+ ⇔ 乳酸＋NAD^+

NADHが消費される速度は反応混合液を340 nmで吸光度測定すれば得られ、LDHは過剰量なのでこの速度が最初の反応でのピルビン酸生成速度に直接比例します。およそ80%の酵素反応はこのようにしてモニターできます。

反応混合液の340 nm吸光度と時間のグラフは以下の図のようになると考えられます。



グラフの曲線は以下の3相に分かれます。

第一相、A-B間：反応物の混合、熱平衡、直線相への導入

第二相、B-C間：直線相

第三相、C-D間：反応物の内の1つが反応速度限界に達して反応速度が降下、反応速度は0まで減少

反応速度はプロット直線部分の傾きで表され、Beerの法則から単位時間当りの吸光度変化、dA/dtは以下の式で得られます。

$dC / dt = (dA / dt) \times (1 / EL)$

dC/dt は濃度の変化速度(mol / l)

L＝セル長（通常1 cm）

E＝測定物質のモル吸収度（モル吸光係数）、NADHではE＝6300 l/mol/cm

濃度変化速度は酵素活性の算出に利用でき、以下の式で定義されます。

$酵素活性 = (dC / dt) \times (Vt / Vs)$

Vt＝反応混合液の全容量

Vs＝サンプル容量

酵素活性には2つの国際単位があります。

1）U またはI U で表される酵素活性の国際単位。25℃で基質1マイクロモルを1分当りに変換させる酵素量と定義されている。

2）カタール（カット：kat）で表され、基質1モルを1秒当りに変換させる酵素量と定義されている。

$1IU = 1.67 \times 10^{-6}\,kat$、 $1kat = 6 \times 10^{7}\,IU$

※カタールはSI単位として認められていますが、あまり使われていません。

算出方法を濃度（mol/l）の変化速度として定義しているため、結果は単位容量当りの活性、IU/lまたはkat/lとなります。

上記の式で酵素活性はdA/dtに比例していることから、モル吸光度とサンプル容量の変数を組み合わせて変換ファクターを作成し、酵素活性の算出法を単純化することができます。それらの変数をIU/lの単位に転換すると以下の式で表されます。

$Factor\ (\mu mol/l) = (Vt \times 10^{6}) / (E \times L \times Vs)$

Vt ＝全反応物容量(ml)

Vs ＝サンプル容量(ml)

E ＝モル吸収度(l/mol/cm)

L ＝セル長（通常1 cm）

《アラニントランスアミナーゼ酵素反応の例》

サンプル容量を0.2 ml、全反応物容量を2.20 mlとした場合、変換ファクターは以下のように算出されます。

$Factor = (2.20 \times 10^{6}) / (6300 \times 1 \times 0.2) = 1746\ \mu mol/l$

吸光度変化速度、dA/dtは吸光度vs時間のプロットでの直線部分のデータを直線回帰分析すれば、分当りの吸光度変化を示す傾きの値として算出されます。この方法はIU単位で利用するのに便利ですが、マイクロkatalでは変換ファクターを60で割る必要があります。

酵素活性は、吸光度の変化速度と変換ファクターを掛けて算出します。

酵素活性(IU / l) =dA / dt ×ファクター

直線二乗回帰式

反応速度論における吸光度の変化率を、以下の式を用いるデータの最小二乗直線回帰から計算します（式中のnはデータ数です）。

$$\text{傾き} = \frac{\Sigma x \Sigma y - n \Sigma xy}{\Sigma x \Sigma x - n \Sigma x^2}$$

$$\text{切片} = \frac{\Sigma y - x \times \text{傾き}}{n}$$

直線性は、最小二乗回帰の「適合の良好性」の推定値となるもので、完全な適合のときに1になります。KineticsモードとStd Curveモードの両方に使用され、以下の式を用いて計算される相関関数によって表されます。

$$\text{信頼性} = 100 \times \frac{\Sigma x \Sigma y - n \Sigma xy}{((\Sigma x)^2 - n \Sigma x^2)((\Sigma y)^2 - n \Sigma y^2)}$$

タンパク質の定量

595、546、562 nmでの定量

ブラッドフォード法では、濃度未知のタンパク質とクマシーブリリアントブルー色素との結合を、濃度既知の標準タンパク質の結合と比較することにより、定量を行います。標準タンパク質としては、一般的にウシ血清アルブミン（BSA）が用いられ、595 nmで測定します。ビューレット法では、アルカリ溶液中での銅イオンとペプチド結合との反応生成物の吸収（546 nm）を測定します。BCA法では、ビューレット法と同様の反応を行い、bicinchoninic acid（BCA）を用いて銅イオンを検出（吸収極大：562 nm）します。BCAによる測定は、細胞壁の破壊に使用する界面活性剤などの影響を比較的受けません。

プロトコールの詳細は、測定キットに添付されている説明書をご参照ください。546～595 nmにおけるランプのエネルギーは比較的低いため、吸光度2.000以上は測定できません。

セルはプラスチック製のディスポーザブルセルの使用をおすすめします。

濃度0のスタンダードを含む場合には、スタンダード1の濃度を0.0と入力し、全体のスタンダード数は濃度0のものも含めた数に設定します。各スタンダードを2点ずつ取りたい場合は、同じ濃度を2度ずつ入力してください。例えば、3つの濃度のスタンダードを2点ずつ取る場合には、全スタンダード数は6になります。リファレンスは水で取ります。

測定したスタンダードの各点に対する回帰直線が計算され、その相関係数とともに出力することができます。相関係数が0.95～1.00の間であれば、良好な直線であると判断できます。

UV (280 nm) での定量

タンパク質は、チロシン、トリプトファン、フェニルアラニンなどのアミノ酸残基による280 nmの吸収に基づいて定量することができますが、Abs_{280}の値はアミノ酸組成によってタンパク質間でかなり異なります。したがって、特定のタンパク質を定量するには、そのタンパク質の吸収特性を決定しておく必要があります。

タンパク質溶液に核酸が混入している場合には、核酸の280 nmにおける強い吸収が、測定値にかなり影響を及ぼします。この影響は、酵母エノラーゼの結晶を用いたChristianとWarbergの式（*Biochemisceh Zeitung* **310**, 384 (1941)）により260 nmの吸光度を測定することによって補正することができます。

タンパク質濃度 (mg/ml) = $1.55 \times Abs_{280} - 0.76 \times Abs_{260}$　もしくは、

タンパク質濃度 (mg/ml) = （ファクター1×Abs_{280}） -（ファクター2×Abs_{260}）

この計算式は、対応するファクターの値がわかっている場合には、他のタンパク質にも適用することができます。本装置では、280 nmの吸収に基づくタンパク質の定量を行うことができ、上記の計算式が初期設定として入力されています。ファクターの値は変更することができ、320 nmにおけるバックグラウンドの補正もset-upで選択できます。

特定のタンパク質に対して計算式をカスタマイズするには、この2つのファクターを導く簡単な計算式を作るために、濃度の明らかなタンパク質溶液で260、280 nmにおける吸光度を決定する必要があります。ファクター2が負の値の場合は、260 nmにおける吸収がタンパク質濃度に寄与しないと判断して0に設定します。

280 nmにおける吸光度から直接タンパク質濃度を求める場合には、ファクター2を0に設定し、ファクター1はそのタンパク質の吸光係数とします。BSA（ウシ血清アルブミン）をスタンダードとして利用する場合、ファクター1 = 1.115に設定することで、タンパク質濃度0～0.8 mg/mlの間で直線性のある定量結果が得られます。

$$\text{タンパク質濃度（mg/ml）} = 1.115 \times \text{Abs}_{280}$$

Abs_{280}を利用した測定方法は簡便なため、スピンカラムで遠心分離したり、HiTrapカラムで滴下して分離したタンパク質やペプチドの定量に、特に便利です。

仕様

波長レンジ	190～1,100 nm in 0.1 nm data intervals
モノクロメーター	1,200 lines/mm aberration corrected concave grating
最大スキャンスピード	4,000 nm/min at 2 nm intervals
バンド幅	1.0 nm
波長精度	± 0.5 nm
波長再現性	± 0.2 nm
光源	Tungsten halogen and duterium lamps
ディテクター	Silicon photodiode
測光レンジ	- 3.000 ～ 3.000 A, -99999～99999 concentration units, 0.1% T～200% T
測光精度	± 0.5% or ± 0.003 A to 3.000 A at 546 nm, whichever is the larger
測光再現性	Within 0.5% of absorbance value to 3.000 A at 546 nm
安定性	± 0.001 A per hour at 340 nm at 0 A after warm up (duterium lamp)
迷光	< 0.025% T at 220 nm using NaI and < 0.025% T at 340 nm using $NaNO_2$
デジタル出力	9 pin serial and centronics parallel
サンプルコンパートメントサイズ	210×140×80 mm
本体サイズ	520×370×230 mm
重量	13 kg
電源	90～265 V AC, 50/60 Hz, 150 VA
Safety standard	EN 61010-1
EMC emissions	EN 61326-2.3 Generic emissions
EMC immunity	EN 61000-4.6 Generic immunity part 1
Mains harmonics	EN 61000-3.2
Quality System	Designed and manufactured in accordance with an ISO 9001 approved quality system
British design registration No.	207049

※ 上記仕様上の測定値は、一定の室温下で測定した典型的な値です。製品開発・改善のため予告なしに製品の外見・仕様の一部を変更することがあります。

保証

製品が明示した仕様に適合していることを保証します。製品の保証期間は、取り扱い説明書に基づき正しく使用した場合に限り、装置ご購入後12ヶ月です。本製品を取り扱い説明書以外の誤った使用により生じた損失や故障については、弊社は一切の責任を負いかねます。

本製品は、 Biochrom Ltd., 22 Cambridge Science Park, Milton Road, Cambridge CB4 0FJ, UKにて開発、製造しています。

©2007 GE ヘルスケア バイオサイエンス株式会社
本書の全部または一部を無断で複写複製することは、
著作権法上での例外を除き、禁じられています。

GEヘルスケア バイオサイエンス株式会社

本 社 〒169-0073
東京都新宿区百人町3-25-1 サンケンビルヂング

お問合せ：バイオダイレクトライン
TEL : 03-5331-9336　FAX : 03-5331-9370
e-mail : Tech-JP@ge.com

ISO 9001:2000認証取得

Home Page **www.gehealthcare.co.jp/lifesciences**

掲載されている製品は、試験研究用以外には使用しないでください。掲載されている内容は、予告なく変更される場合がありますのであらかじめご了承ください。
掲載されている社名や製品名は、各社の商標または登録商標です。この印刷物は、再生紙を使用し大豆インキにて印刷しています。

GE Healthcare

安全上のご注意

必ずお守りください

このしおりには、弊社機器に関する一般的な注意事項を記載しています。取扱いの詳細は必ず製品添付の使用説明書をご覧ください。

誤った取扱いをした場合に生じる危険や損害の程度を、次の区分で説明しています。

警告 誤った取扱いをした場合に、死亡や重傷を負う可能性があるもの。

注意 誤った取扱いをした場合に、傷害または物的損害が発生する可能性があるもの。

図記号の意味は次の通りです。

禁 止 ⃠は、してはいけない「禁止」を示します。

❗は、必ず実行していただく「強制」を示します。

警告

禁 止

電源プラグの抜き差しにより、運転を停止しない

火災・感電の原因になります。

禁 止

電源コードを途中で接続しない、タコ足配線をしない

火災・感電・故障の原因になります。

禁 止

電源コード・電源プラグを傷つけない

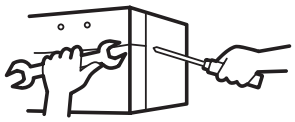
●加工しない ●束ねない ●ねじらない
●折らない ●物をのせない ●加熱しない
●無理に曲げない

破損して火災・感電の原因になります。

禁 止

修理・分解・改造はしない

火災・感電の原因になります。



根元まで差込む

電源プラグのほこりを取り除き、刃の根元まで確実に差込む

接続が不十分だと、隙間にほこりが付着して火災・感電の原因になります。

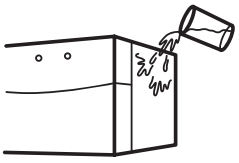
指定の規格

取扱説明書に指定された規格のコンセントを使用する

指定された規格以外で使用すると火災・感電の原因になります。

禁 止

本体を水につけたり、水をかけたりしない



ショート・感電の原因になります。

禁 止

電源コードや電源プラグが傷んだり、コンセントの差し込みがゆるいときは使わない

感電・ショート・発火の原因になります。

禁 止

使用時や使用直後（運転停止後約60分間）は、操作に関係のない部位には触れない

高温部に触れ、やけどの原因になります。

プラグを抜く

異常時は、運転を停止して電源プラグを抜く

異常のまま運転を続けると火災・感電の原因になります。

禁 止

同梱の電源コード・電源プラグ以外のコード・プラグを使用しない

故障・火災・感電の原因になります。

禁 止

同梱の電源コード・電源プラグを他の電気機器に使用しない

故障・火災・感電の原因になります。

⚠ 注意

禁 止

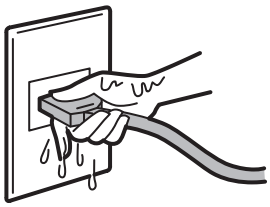
設置時は、次のような場所には置かない

●不安定な場所　●湿気やほこりの多い場所
●油煙や湯気が当たる場所
●直射日光の当たる場所　●風雨のあたる場所
●熱器具の近く　●高温になる場所
●吸・排気口をふさぐような場所

このような場所に置くと、ショートや発熱、電源コードの被膜が溶けるなどして、火災や感電、故障、変形の原因になることがあります。

禁 止

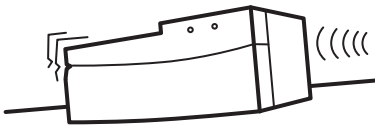
ぬれた手で電源プラグを抜き差ししない



感電の原因になります。

水平

水平で丈夫な場所に設置する



プラグを持つ

電源プラグを持ってまっすぐ引き抜く

ななめに引き抜いたり、コードを持って抜くと、プラグの刃や芯線が破損してショート・感電・発火の原因になります。

⚠ 低温室で使用する場合の注意

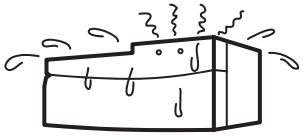
電源を入れておく

装置を低温環境下でご使用になる場合、システム電源は常時入れておく

低温環境下で長時間システムの電源を落とした状態で放置すると、結露などにより故障の原因になります。
ランプなどの消耗品は OFF にしておくと、劣化を防ぐことができます。

電源を入れない

装置を低温室から常温の場所に移動させる場合、常温に設置後、装置内の結露が無くなるまでシステム電源を入れない（状況により異なるが、通常半日から一昼夜）



感電・漏電火災の原因になります。

弊社製品についてのお問合せ　（バイオダイレクトライン）

TEL : 03-5331-9336

受付時間 9 : 00 ～ 17 : 30
土・日・祝日、弊社指定休業日、年末年始を除く